电损毁海马对大白鼠学习和记忆的影响

刘仁义　徐秉烜

（中国科学院上海脑研究所）

摘　要

损毁双侧海马后，大白鼠迷宫分辨学习的保存和防御条件反应均遭到严重的破坏。大区域损毁海马，不仅影响动物原先学会的反应，而且影响重新学习的能力。同等量皮层损毁对记忆功能没有影响。海马背部与腹部在学习记忆中的作用是不同的，海马腹部在迷宫分辨学习的记忆中起主要作用，而背部对这种分辨记忆不起作用。

自从临床上报导切除海马引起人的新近记忆丧失后(Penfield et al., 1958; Scoville et al., 1957; Stepien et al., 1960)，有很多关于海马记忆功能的动物实验报告（Pribram et al., 1957）。但是，动物实验结果很不一致。Douglas，Kimble等认为海马与行为的抑制功能有关（Douglas, 1967; Kimble, 1968）。而更多的资料报导海马在学习记忆中起重要作用（Mering et al., 1973; Olton et al., 1978; Isseroff, 1979）。

近年来神经解剖资料表明，海马背部与腹部有各自不同的纤维连接（Raisman et al., 1966; Siegel et al., 1971），这些不同是否会导致功能上的差异？我们设想，研究海马背部与腹部在学习记忆中的不同作用可能有助于澄清动物实验结果的分歧。我们观察用直流电大区域损毁双侧海马或局部损毁海马背部或腹部，对大白鼠防御条件反应和迷宫分辨学习的影响，从而探讨海马结构不同部位在学习记忆中作用的可能区别。

实 验 方 法

实验动物为成年雄性大白鼠，体重在200—300克之间，每只动物单独饲养在一个鼠笼中。实验步骤是，先训练动物完成一定的学习任务，次日作海马电损毁手术，手术后（三天和十四天）分组进行记忆保存检查，最后作脑组织的形态学检查。

本文1982年1月13日收到。

一、行为实验

1.防御条件反应：实验用特制的塑料箱，箱分甲、乙、丙三小室，甲室为起步区，乙室为通道，丙室为安全区。甲、乙两室底部由铜棒组成，可以施加电击作为非条件刺激，甲室的灯光作为条件刺激，建立防御条件反应。每日作两轮实验，每轮实验作三次结合，当连续三轮实验都出现两次或三次条件反应即认为该动物防御条件反应达到了学会标准，次日即可作海马或皮层损毁手术，手术后休息三天或十四天检查防御条件反应的变化。

2.迷宫分辨

①Y型迷宫分辨：Y型迷宫箱主干端部为动物起步区，两支臂顶端有信号灯，迷宫箱底部由铜棒组成，可以通电流给动物施加电击，灯光信号示安全区（不施加电击），两支臂灯光随机呈现（Gellerman，1933）。实验开始时先将动物放在起步区，开亮一侧支臂灯光，作用5秒后即给动物施加电击（交流40—60V），直至动物逃避到安全区为止，灯光继续作用10秒后，取出动物放回起步区，结束一次测试。两次测试间隔为20—30秒。当连续10次测试反应正确即认为达到学会标准，可作损毁海马或皮层手术。记忆保存率的计算(徐秉烜等，1979)。

②辐射型迷宫分辨：辐射型迷宫箱三支臂呈三等分状，实验时没有固定的起步区，前一次测试的安全区——动物所在的支臂就作为下一次测试的起步区，这样可连续进行实验，不需要实验者在实验过程中去接触动物，减少了对动物的干扰。在以后实验中均采用这种辐射型迷宫，详细实验步骤见(徐秉烜等，1979)。

二、海马损毁手术与形态学检查

在灭菌条件下作海马损毁手术，以戊巴比妥钠麻醉（45mg/kg体重）在简易定位仪上依Krieg图谱进行海马定位（布瑞希等，1963）。大区域损毁，每侧损毁五个点，（P_3 L_2 $H_{3.5}$，P_4 $L_{3.5}$ $H_{4.5}$，P_4 $L_{4.8}$ H_6，P_5 $L_{3.5}$ $H_{3.5}$，P_5 $L_{4.8}$ H_6，以及右侧的五个对称点）。海马背部损毁左侧一个点（P_3 L_2 $H_{3.2}$），以及右侧的对称点。海马腹部损毁左侧一个点（P_4 $L_{4.2}$ $H_{7.5}$），以及右侧的对称点。同等量双侧皮层损毁作为对照，皮层损毁定位仅局限在皮层较浅部分，前后平面及左右定位参数同海马一致。用35# 漆包线作为脑损毁电极，尖端裸露0.5毫米，阳极电流1.5毫安，通电时间45秒。

记忆检查实验结束后，快速处死动物，取出大脑，用Carnoy液固定，石腊包埋，作8微米厚的连续切片，焦油紫染色，对损毁的脑区进行组织学检查。

实 验 结 果

一、双侧海马大区域损毁对防御条件反应和迷宫分辨学习保存的影响

1.防御条件反应：在7只动物上进行了双侧海马大区域损毁的实验，结果表明，不论手术后三天或十四天，大白鼠的防御条件反应都完全消失，但经重复训练后能重新建立防御条件反应（图1）。对6只双侧皮层损毁的对照组动物，也分别在手术后三天或十四天进行了检查实验，防御条件反应均保持正常（图1）。

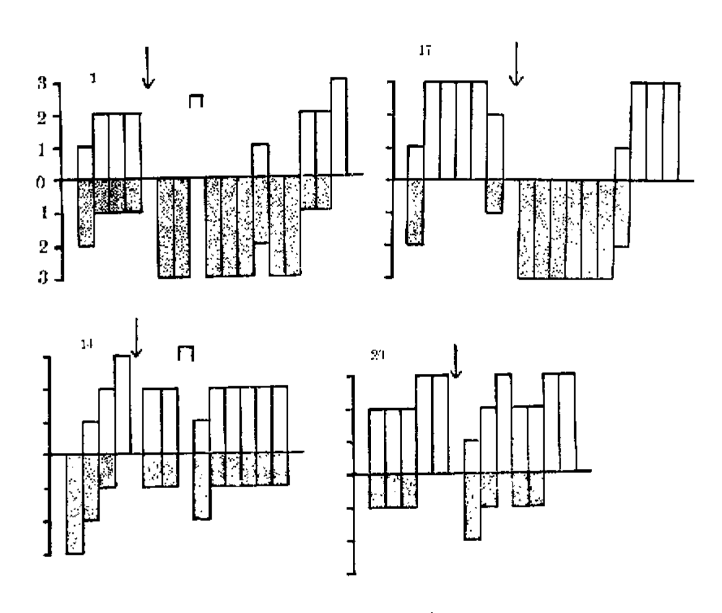


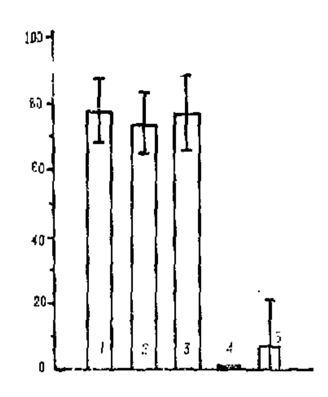
图 1　双侧海马大区域损毁对防御条件反应的影响示例

纵坐标，上段示出现阳性条件反应的次数，下段示没有出现条件反应的次数。横坐标：实验顺序（自左至右），每柱示一轮实验结果。“↓”：手术，“ㄇ”：间隔6天。图内数字为动物编号。1号海马损毁，术后3天实验。17号损毁海马，术后14天实验。14号，20号分别为损毁皮层，术后3天或14天实验。

2.Y型迷宫分辨学习实验：大白鼠在一个实验日内就能达到迷宫分辨任务的学会标准。根据86只正常动物的实验结果，达到标准前所需的测试次数平均为15.9±11次，达到标准后四天的记忆保存率为78±10.6%，十四天后的记忆保存率为74±10.2%。

在11只动物上进行了双侧海马大区域损毁，其中6只动物在手术后三天进行记忆保

存检查。结果表明原先学会的迷宫分辨完全被破坏。在个别动物上，一个实验日作了60次测试仍不能重新达到标准。动物行为表现较兴奋、凶悍，这种情绪反应在一周后趋于正常。另外5只动物在手术后十四天检查，迷宫分辨任务的记忆同样受到破坏，仅有一只动物记忆保存35%，其余4只动物的记忆保存平均为7%（图2）。这一结果证明了前一组动物记忆破坏不是由于手术后恢复时间太短的关系。这些海马损毁的动物，在Y型迷宫分辨学习的连续实验观察中，每周作两轮实验，每轮作20次学习测试，约在四、五轮实验后，能在随后的实验日里以接近手术前所需的测试次数达到标准。此后分辨记忆保存也较好（图3）。在6只双侧皮层大区域损毁的动物上，手术后三天检查，迷宫分辨任务记忆保存平均为77±12.5%（图2），以后几轮的检查，达到标准前所需的测试次数就更少（图3）。



纵坐标：迷宫分辨学习的保存率（%）
1.正常动物学习后4天，
2.正常动物学习后14天，
3.皮层损毁组手术后3天，
4.海马损毁组手术后3天，
5.海马损毁组手术后14天。

图2 双侧海马大区域损毁对大白鼠迷宫分辨学习保存的影响

图4是43号大白鼠双侧海马大区域损毁及13号大白鼠双侧皮层大区域损毁的组织学切片图，图示43号鼠P_3—P_4切面海马组织大部分被损毁，其他部位损伤较小，该鼠不仅原来学会的迷宫分辨遭到破坏，而且需要较多的学习次数才能重新学会。而13号鼠P_3—P_4面皮层大部分被损毁，在P_4面上一侧海马也稍有损伤，该鼠原来学会的迷宫分辨任务记忆保存为75%，记忆在正常水平。

二、局部损毁双侧海马背部或腹部对迷宫分辨学习保存的影响：

这部分实验在辐射型迷宫中进行。24只动物首先学习辐射型迷宫分辨，达到标准（分辨学习20次测试中正确17次）后，随机分成三组，每组8只动物，分别损毁双侧海马背部、腹部或皮层，手术后十天检查分辨学习的保存。结果见图5，海马背部损毁组的迷宫分辨保存率平均为94.6±8.2%，海马腹部损毁组分辨保存率平均为2.7±4.9%，皮层损毁组分辨保存率平均为90.2±12.8%，经统计学处理，海马腹部损毁组与背部损毁组的差异极为显著（$P<0.001$）。海马背部损毁组与皮层损毁组无显著差

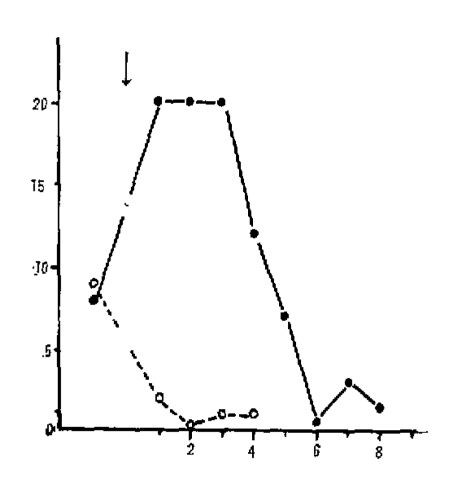


图 3　双侧海马大区域损毁大白鼠迷宫分辨重新学习曲线。纵坐标，达到标准前所需测试次数。横坐标，手术后实验顺序（轮），每周进行两轮实验。“↓”损毁手术，“•—•—•”，双侧海马损毁。“○---○---○”，双侧皮层损毁。每点为 4 只动物的平均数。

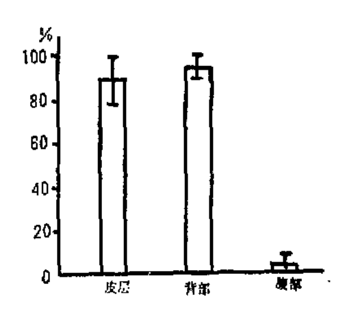


图 4　双侧海马背部、腹部或皮层损毁对迷宫分辨学习保存的影响，纵坐标为分辨学习的保存率。

异（$P>0.05$）。实验表明海马腹部损毁的动物迷宫分辨学习的保存明显受到破坏，而海马背部损毁和皮层损毁的动物迷宫分辨学习的保存则不受影响。三种损毁部位动物的脑组织切片图（图 7）显示，皮层、海马背部或腹部的损伤，参数相同，损伤部位的大小是相近的。

讨　论

本实验中海马大区域损毁后，动物原先建立的防御条件反应和迷宫分辨学习均遭到严重的破坏。这一结果提示海马损毁的动物对空间信息和视觉分辨能力有了明显的缺损，表明海马结构在大白鼠记忆功能中起重要作用，这与前人的报导（Issacson, 1974），海马损伤后，主动防御反应与视觉亮度分辨反应受损的资料相符。虽然在实验过程中，海马损毁的大白鼠行为较为兴奋，抓捕时易惹起凶怒的情绪反应，但在损毁手术一周后，这种情绪反应趋于稳定，因此手术后两周所获得的实验资料不能用行为抑制的解除来解释。

双侧海马切除的病人，学习新事物有困难，同时短时记忆发生障碍，而长时记忆不受影响。大白鼠防御条件反应和迷宫分辨学习的保存，在学习形式上不同，但这两种反应都可看作是长时记忆。大白鼠海马大区域损毁后，不仅这两种学习行为的保存都遭到破坏，同时动物重新学习的速度也受到明显影响。这提示，损毁海马结构既影响记忆，又影响学习。而学习与短时记忆是密切相关的，这是动物实验结果与临床结果相似之处。但是动物实验结果与临床观察也存在一定的差异，产生这种差异的原因是复杂的，临床观察法与动物实验方法不同，切除部位大小不同，均使这种对比十分困难。现在已知海马结构可分成若干部位与亚区，它们都有着不同的功能，因而海马损毁的大小及部位的不同都能导致结果的差异。

我们分区损毁大白鼠海马，观察到海马背部损毁不影响迷宫分辨学习的保存，而海马腹部损毁，迷宫分辨学习的保存受到完全的破坏。表明海马背部与腹部的功能存在着明显的差别。这与不久前Jarrard的报导，海马背部cA_1区和海马槽损伤对空间迷宫学习任务的学习有影响，而对迷宫学习任务的保存没有影响的结果相似（Jarrard, 1978）。邵道生等（1981）发现电刺激海马背部对建立条件反射的初期有较大的干扰作用，随着条件联系的建立，刺激海马背部而引起的干扰作用明显减弱，则从侧面证明海马背部功能影响学习而不影响记忆。最近Livesey利用电刺激或损毁法对海马各区功能进行观察后提出，海马不同部位在学习记忆中有不同作用，cA_1区同分辨学习有关，而齿回则同分辨学习的反转有关（Livesey, 1980）。我们认为进一步研究海马不同部位以及海马各区的细胞在学习记忆中的作用是澄清前人实验结果之间的矛盾和阐明海马在学习记忆中作用的有效途径。

参 考 文 献

布瑞希等著 1963 电生理学方法。上海科技出版社。

邵道生，匡培梓 1981 电刺激海马背部对建立空间辨别回避条件反射的影响。心理学报 3：253—256.

徐秉垣，段惠芬，刘仁义 1979 施加核糖核酸酶于海马对于学习和记忆的影响。科学通报(4):182—185.

Douglas, R. J. 1967 The hippocampus and behavior. *Psychol. Bull.* 67: 416—442.

Gellerman, L. W. 1933 Chance orders of alternating stimuli in visual discrimination experiments. *J. Genet. Psychol.* 42: 206—208.

Isaacson, R. L. 1974 The Limbic System. *New York, Plenum.*

Isaacoson, R. L. and Pribram, K. H. 1975 The Hippocampus: A comprehensive treatise. *Plenum Press. New York.*

Isseroff, Ami. 1979 Limited recovery of spontaneous alternation after extensive hippocampal damage: Evidence for a memory impairment. *Exp. Neurol.* 64: 284—294.

Iversen, S. D. 1976 Do hippocampal lesions produce amnesia in animals? *Inter. Rev. Neurobiol.* 19: 1—49.

Jarrard, L. E. 1978 Selective hippocampal lesions: Differential effects on performance by rats of a spatial task with preoperative versus postoperative training. *J. of Comp. and Physiolo. Psychol.* 92: 1119—1127.

Kimble, D. P. 1968 The hippocampus and internal inhibition. *Psychol. Bull.* 70: 285—295.

Livesey, P. J., Meyer, P. and Smith, J. P. 1980 Effects of disruption of hippocampal function on learning of a go/no-go discrimination in the rat. *Brain Research* 196: 197-202.

Mering, T. A. and Mukhin, E. I. 1973 Functional significance of the hippocampus. *Physiology* and *Behavior.* 10:185—191.

Olton, D. S., Branch, M. B. and Best, P. J. 1978 Spatial correlates of hippocampal unit activity. *Expll. Neurol.* 58: 387—409.

Penfield, W. and Milner, B. 1958 Memory deficit produced by bilateral lesions in the hippocampal zone. *Arch. of Neurol. and Psychiat.* 79: 475—497.

Raisman, G., Cowan, W. M. and Powell, T. P. S. 1966 An experimental analysis of the efferent projection of the hippocampus. *Brain* 89: 83—108.

Scoville, W. B. and Milner, B. 1957 Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. of Neurol. Neurosurg. and Psychiat.* 20: 11—21.

Siegel, A. and Tassoni, J. P. 1971 Differential efferent projections from the ventral and dorsal hippocampus of the cat. *Brain Behav. and Evol.* 4: 185—200.

Stepien, L. and Sierpinski, S. 1960 The effect of focal lesions of the brain upon auditory and visual recent memory in man. *J. of Neurol. Neurosurg. and Psychiat.* 23: 334—340.

EFFECTS ON LEARNING AND MEMORY OF ELECTROLYTIC LESIONS OF HIPPOCAMPUS IN RATS

Liu Renyi Hsu Pinghsuan

(Shanghai Brain Research Institute, Academia Sinica)

The light discrimination and retention in maze and in avoidance box were seriously impaired after bilateral large area electrolytic lesions of the hippocampus in rats. The impairment involved not only the responses learned before operation but also the relearning ability. No effect was found in those animals with lesion of equal amount of area in cortical area. The results of local electrotytic lesion on dorsal or ventral hippocampus showed that the ventral part of hippocampus played an important role in light discrimination retention in maze while the dorsal part of hippocampus was not essential to these responses.

刘仁义等：电损毁海马对大白鼠学习和记忆的影响



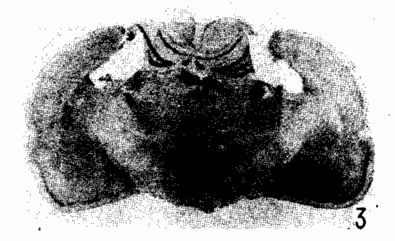
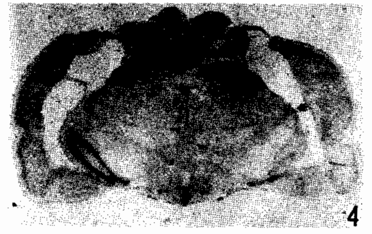
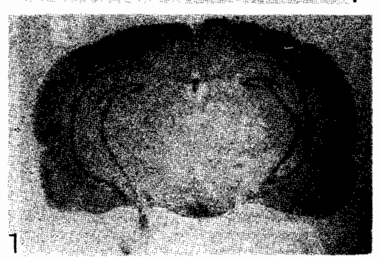
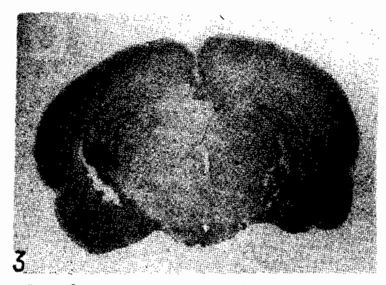
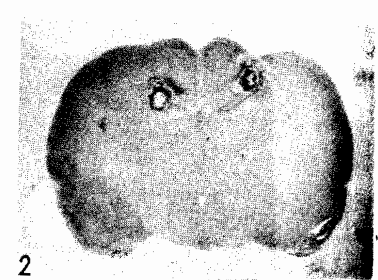
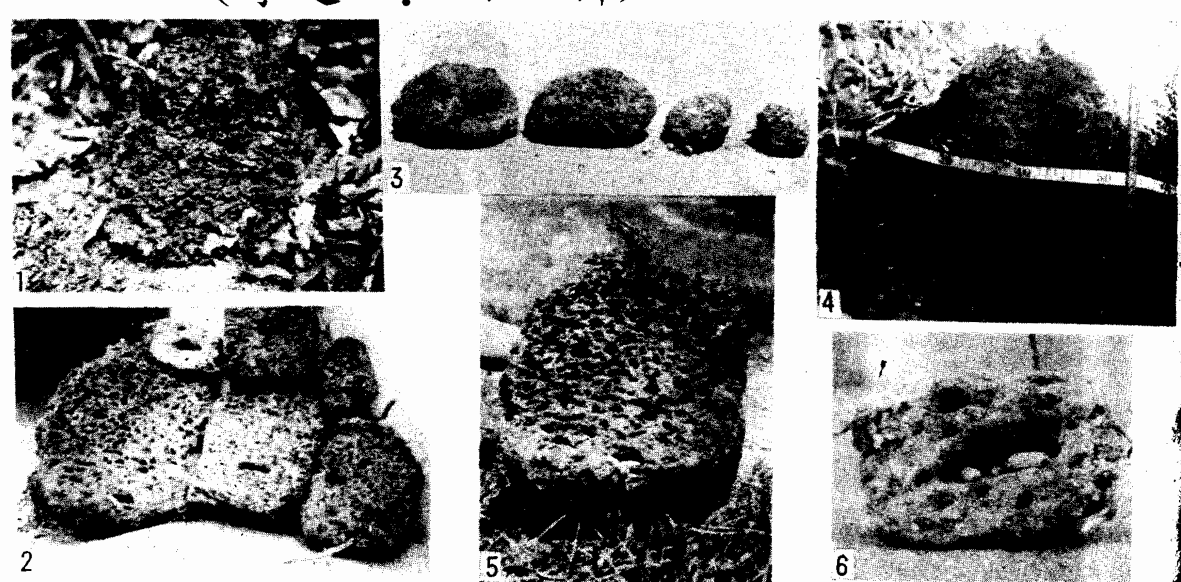



图 5 双侧海马或皮层大区域损毁脑组织切片图：1、2 为鼠13号皮层损毁，3、4 为鼠43号海马损毁，焦油紫染色。

图7.皮层、海马背部腹部局部损毁脑组织切片图： 1 图示87号鼠皮层损毁； 2 图示81号鼠海马背部损毁； 3 图示84号鼠腹部损毁，焦油紫染色。

李桂祥：海南岛的白蚁垅巢及歪白蚁属一新种（等翅目：白蚁科）



图版1.大锯白蚁 *Microcerotermes crassus Snyder* 的垅巢外形，巢体包围着树基，形成不可分离的关系。
图版2.右边 1 — 2 示大锯白蚁 *M. crassus Snyder* 的垅巢剖面，左边1 示五指山歪白蚁垅巢剖面。
图版3.大锯白蚁 *M. crassus Snyder* 的垅巢，从左至右1 — 3 示巢体大小与群体多少的关系。
图版4.五指山歪白蚁 *Capritermes wuzhishanensis* sp.nov. 的垅巢外形
图版5.五指山歪白蚁 *Capritermes wuzhishanensis* sp.nov. 的垅巢纵剖面。
图版6.五指山歪白蚁 *Capritermes wuzhishanensis* sp.nov. 的“王台”内有三个原始蚁后。